TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

JAARGANG 57 - 1951

3e AFLEVERING

Ent.86

Uitgave van de

NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Onder Redactie van

Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS;
Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek,
Binnenhaven 4*a*, Wageningen

INHOUD

HOOFDARTIKELEN Blz.

MARTHA BAKKER – Bacterievlekkenziekte in bloemkool en andere koolsoorten, veroorzaakt door *Pseudomonas Maculicola* (McCulloch) Stevens. *With a summary: Bacterial spot of cauliflower and other Brassica species, caused by Pseudomonas maculicola* (McCulloch) Stevens 75

J. B. M. VAN DINTHER – Eriophyes Gracilis Nal., als verwekker van gele bladvlekken op framboos. *With a summary: Eriophyes gracilis Nal. and yellow leaf spots on raspberry* 81

T. H. THUNG en T. HADIWIDJAJA – Groeistof in verband met virusziekte, in het bijzonder bij Arachis hypogaea. *With a summary: Growth substances in relation to virus diseases; experiments with Arachis hypogaea* 95

L. C. P. KERLING – Uit de literatuur 100

BESTUUR
VAN DE NEDERLANDSE PLANTENZIEKTENKUNDIGE VERENIGING

Dr J. G. ten Houten, Wageningen, *voorzitter*.
Mej. Dr L. C. P. Kerling, Binnenhaven 4, Wageningen, *secretaresse*.
Dr Ir J. W. Seinhorst, Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen, *penningmeester*. Postrekening no 346310 t.n.v. Penningm. Ned. Plantenziektenkundige Vereniging, Wageningen.
Ir C. W. C. van Beekom, Middelharnis.
C. Houtman, Hoorn.
Dr A. D. Voute, Oosterbeek.
Mej. A. L. van Beverwijk, Baarn.

Lidmaatschap Ned. Plantenziektenkundige Vereniging

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 5,—, België f 5,50 of 75 francs, Buitenland f 6,—. Leden ontvangen het tijdschrift gratis.

Abonnement Tijdschrift

Nederland, Indonesië, Suriname en Curaçao f 7,—, België f 7,— of 90 francs. Buitenland f 10,—. Betalingen op postrekening 346310 t.n.v. Penningmeester Ned. Plantenziektenkundige Vereniging te Wageningen. Voor België op Postrekening 115754 van de Heer G. Roland, ingénieur agronome te Gembloux.

Advertentiën

Prijzen per plaatsing: $\frac{1}{8}$ pag. f 7,50, $\frac{1}{4}$ pag. f 12,50, $\frac{1}{2}$ pag. f 20,—, 1 pag. f 35,—.
Bij 3 maal plaatsen van dezelfde advertentie 10 procent korting.
Bij 6 maal plaatsen van dezelfde advertentie 20 procent korting.
Voor plaatsing wende men zich tot de secretaris der Redactie-Commissie, p.a. Binnenhaven 4*a*, Wageningen, tel. 2151, of tot H. Veenman & Zonen, Wageningen, tel. 2242.

NEDERLANDSE NAMEN VOOR PLANTENZIEKTEN BIJ LANDBOUWGEWASSEN

De redactie-commissie vestigt bij deze nogmaals de aandacht op de lijst van Nederlandse namen voor Plantenziekten bij landbouwgewassen, uitgegeven in 1941 vanwege de Nederlandse Plantenziektenkundige Vereniging.
Zij verzoekt tevens de schrijvers van artikelen voor het Tijdschrift over Plantenziekten van deze naamlijst gebruik te willen maken. De naamlijst kan alsnog aangevraagd worden voor de prijs van f 0.25 bij de Uitgevers H. Veenman & Zonen te Wageningen.

DE REDACTIE-COMMISSIE

TIJDSCHRIFT OVER PLANTENZIEKTEN

Onder redactie van Mej. H. L. G. DE BRUYN; Dr J. A. A. M. H. GOOSSENS; Ir P. HUS; Prof. Dr A. J. P. OORT en Dr H. J. DE FLUITER (Secretaris)

Redactie-adres: p/a Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Binnenhaven 4a, Wageningen

Drukkers-Uitgevers: H. Veenman & Zonen - Wageningen

57e JAARGANG (1951) **3e AFLEVERING** **MEI-JUNI**

BACTERIEVLEKKENZIEKTE IN BLOEMKOOL EN ANDERE KOOLSOORTEN, VEROORZAAKT DOOR *PSEUDOMONAS MACULICOLA* (McCulloch) Stevens [1])

With a summary: Bacterial spot of cauliflower and other Brassica species, caused by Pseudomonas maculicola (McCulloch) Stevens

DOOR

Ir Martha Bakker

Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek, Wageningen

Op verzoek van de Plantenziektenkundige Dienst onderzocht ik een bladvlekkenziekte van bloemkool, waarvan bij de Dienst in de zomer van 1950 enkele inzendingen waren binnengekomen uit Heemskerk (N.H.) en Wijchel (Fr.) en waarvan vermoed werd dat het een bacterieziekte zou zijn. Inderdaad bleek dit een in het buitenland reeds beschreven ziekte te zijn, veroorzaakt door *Pseudomonas maculicola* (McCulloch) Stevens.

ZIEKTEBEELD

Op de bladeren vindt men aanvankelijk kleine, waterige, ronde vlekjes, die spoedig donkerbruin worden met een doorschijnende rand, die te zien is bij doorvallend licht (fig. 4). Doorsnede zonder halo $\pm$ 1 mm. Later worden de vlekjes groter (1–3 mm in doorsnede). Aan de bovenkant van de bladeren zijn ze dan lichtgrijs met een donkerbruin randje en doorschijnende halo, aan de onderzijde van de bladeren zijn de vlekjes donkerder, grijs-bruin, met een donkerbruine rand (fig. 1). De vlekjes worden hoekig, dikwijls vloeien ze samen, en worden bij uitbreiding begrensd door de nerven, waarlangs een zwart randje ontstaat, dat vooral aan de bovenzijde van het blad duidelijk te zien is (fig. 2). De vlekjes zijn iets ingezonken. In doorsneden van bladeren met vlekjes, gekleurd met methyleenblauw, zijn de bacteriën duidelijk zichtbaar (met olie-emersielens). Bij ernstige aantasting treedt bladmisvorming op. De vaatbundels in de bladnerven zijn soms zwart gekleurd. Aangetaste bladeren worden spoedig geel en sterven daarna af. De afgestorven delen zijn lichtbruin en bros, met donkere nerven. De bladeren vallen na korte tijd af. De onderste bladeren zijn altijd het ergst aangetast, door-

[1]) Ontvangen voor publicatie 9-2-1951

dat de bacterie uit de grond met regendruppels op de bladeren spat. Tengevolge van zeer sterke aantasting kan groeiremming optreden. De assimilatie wordt gehinderd en de planten geven dan geen of weinig opbrengst. De plant kan in alle ontwikkelingsstadia aangetast worden. Eén van de inzenders van ziek materiaal aan de P.D. deelde mede, dat de aantasting een kwaliteitsvermindering van de kool tengevolge kan hebben, doordat er zwarte strepen op de bloeiwijze, door de practijk „kool" genaamd, zouden ontstaan, die later tot een totale rotting aanleiding kunnen geven. Of deze verschijnselen inderdaad zijn toe te schrijven aan *Ps. maculicola* zou nader onderzocht moeten worden. De genoemde totale rotting zal in elk geval secundair zijn. Ook enkele andere onderzoekers (1, 2, 7, 15, 16, 22) vermelden aantasting van de „kool", nl. talrijke kleine zwartbruine vlekjes, die bij groter worden ineen vloeien tot één plek over een groot deel van de oppervlakte. Deze aantasting blijft meestal beperkt tot epidermis en aangrenzende parenchymatische lagen. Door secundaire infectie treedt dikwijls een rotting op, die met stank gepaard gaat en die tot diepere lagen doordringt. Het is wel begrijpelijk, dat ook de „kool" ziekteverschijnselen kan vertonen. Dikwijls toch wordt de „kool" met blad bedekt en kan dan door het blad geïnfecteerd worden. Ook opspatten van bacteriën met regen is mogelijk, hoewel dit nooit zo erg kan zijn als op de zich dichter bij de grond bevindende bladeren. Ook wordt overbrenging van de bacterie door insecten vermeld (GOLDSWORTHY, 7). Zelf vond ik in de omgeving van Venlo bij bloemkool met zeer talrijke bacterievlekken op de bladeren, ook een aantasting van de „kool". Deze was oppervlakkig verkleurd, eerst lichtbruin, later donkerder, tenslotte zeer donkerbruin tengevolge van de aantasting door secundaire organismen, die de „kool" verder deden rotten. Tengevolge van de sterke secundaire aantasting gelukte het niet *Ps. maculicola* hieruit te isoleren.

De bacterie kan ook vlekken veroorzaken op de bloemstengels (ATANASOFF, e.a., 2 en MCCULLOCH, 13) en het zaad besmetten, dat daardoor zwart wordt (ZHAVORONKOVO, 22).

Als Nederlandse naam voor deze aantasting zou ik willen voorstellen bacterievlekkenziekte.

VERSPREIDING VAN DE ZIEKTE

De bacterievlekkenziekte komt in zeer veel streken voor, maar is meestal van geringe betekenis. Ernstig aangetaste bladeren vallen spoedig af en als de plant niet telkens opnieuw geïnfecteerd wordt is de ziekte snel overgroeid. De ziekte verspreidt zich niet via de vaten door de plant. De meer of minder ernstige aantasting hangt nauw samen met het weer. In koele, natte zomers kan de ziekte ernstig zijn en van economische betekenis worden. In de natte zomer van 1950 was de ziekte in Nederland vrijwel overal te vinden waar kool geteeld werd. Ernstige aantasting, waarbij soms groeiremming optrad, zag ik in de omgeving van St Pancras en Anna Paulowna (N.H.) en bij Venlo. Mijn indruk was dat de ziekte het ergst optrad op laaggelegen, vochtige terreinen. Door andere oorzaken verzwakte planten, b.v. hartloze planten, werden het meest aangetast. Droog en warm weer remt de infectie. De bacterie is gevoelig voor hogere temperaturen. Volgens MCCULLOCH (13) mislukten infecties bij temperaturen hoger dan 25 °C.

Ongetwijfeld is de ziekte in Nederland ook in vroegere jaren voorgekomen, anders zou ze niet zo in alle delen van het land verspreid zijn. De oorzaak van de ziekte is hier echter nooit eerder met zekerheid vermeld. KERLING (11) beschrijft

Fig. 1. Bloemkoolblad (onderzijde) met ernstige aantasting door *Ps. maculicola*. Op de bladeren donkere vlekjes, soms een lichtgrijs-bruin centrum met een donkere rand.

Leaf of cauliflower (lower side) severely attacked by Ps. maculicola. On the leaves dark spots, sometimes with a dark border round a light greyish brown centre.

Fig. 2. Bloemkoolblad, bovenzijde. Een ouder stadium dan in fig. 1. Het lichtbruine centrum van de vlekken wordt groter, de vlekken grillig van vorm, in elkaar overvloeiend. Aan de onderzijde van het blad donkerder dan aan de bovenzijde.

Cauliflower leaf, upper side. An older stage of the disease than in fig. 1. The light brown centre of the spots is extending, the spots are irregularly angled, coalescent. On the lower side of the leaf they are darker than on the upper side.

Fig. 3. Spruitkoolblad met vlekjes tengevolge van aantasting door *Ps. maculicola.*

Leaf of Brussel sprouts with spots caused by Ps. maculicola.

Fig. 4 →

Fig. 5 →

Fig. 4. Groene savoye kool. Foto met doorvallend licht, waardoor de lichte rand om de vlekjes zichtbaar wordt.

Green savoy cabbage. Photo in transmitted light, the light halo round the spots is visible.

Fig. 5. Microfoto van dwarse doorsnede door een bloemkoolblad, aangetast door *Ps. maculicola.* Coupe 10 μ dik, gekleurd met carbolfuchsine.

Microphoto of a transverse section of a cauliflower leaf, attacked by Ps. maculicola. Section 10 μ *in thickness, stained with carbolfuchsin.*

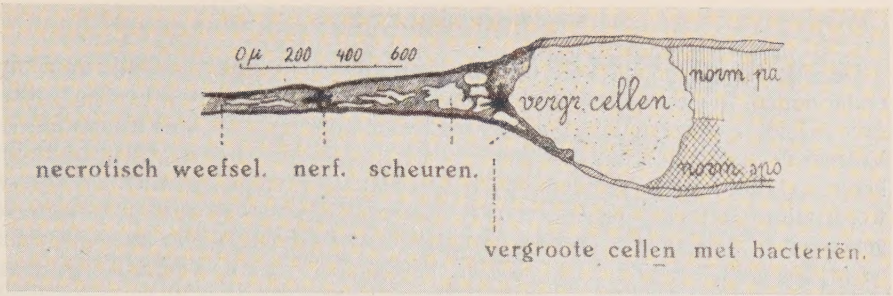


Fig. 6. Topografische tekening van een dwarse doorsnede door een bloemkoolblad, aangetast door *Ps. maculicola*, gekleurd met methyleenblauw. Volgens Kerling (11), blz. 37.

Topographicai drawing of a transverse section of a cauliflower leaf, attacked by Ps. maculicola, stained with methylene blue. After Kerling (11), p. 37.

in haar proefschrift bladvlekken van kool en zegt (p. 87), dat *Ps. maculicola* zeer waarschijnlijk de veroorzaker is van de beschreven vlekken. Uit de overeenkomst tussen de door haar gemaakte topografische tekening van een doorsnede van een bladvlek (fig. 6) en onze preparaten (fig. 5), kan met zekerheid geconcludeerd worden dat zij hier inderdaad te maken had met een aantasting door *Ps. maculicola*. SPIERENBURG (17) verkreeg vlekken op koolbladeren door inoculatie met bacteriën, geïsoleerd uit stippelkool. De bacteriën, waarmee zij werkte, zijn echter niet gedetermineerd en uit de beschrijving van de verschijnselen is niet op te maken of zij met de bacterievlekkenziekte, veroorzaakt door *Ps. maculicola*, heeft gewerkt. Ook in verslagen over de werkzaamheden van de PLANTENZIEKTENKUNDIGE DIENST (19 en 20) wordt een paar maal gesproken over bladziekten bij kool, die misschien door bacteriën zouden zijn veroorzaakt, waarbij betreffende het gevonden ziektebeeld wordt opgemerkt (19): „in de Amerikaanse literatuur is een bacterieziekte bij bloemkoolbladeren – bedoeld wordt de ziekte, veroorzaakt door *Ps. maculicola* – beschreven, die met het hier aangegeven beeld in hoofdzaak, maar niet in alle opzichten overeenkomt". Te oordelen naar de beschrijving van het ziektebeeld meen ik dat men hier met het, vermoedelijk door virus veroorzaakte, stip te maken had.

Het veelvuldig voorkomen van allerlei vlekjes in het blad van kool, met dikwijls onbekende oorzaak, is waarschijnlijk de reden dat deze bacterieziekte hier te lande steeds over het hoofd is gezien.

Volgens één der inzenders van het zieke materiaal zou de ziekte ook het voorgaande jaar zijn opgetreden, doch niet zo ernstig als in 1950 het geval was.

Deze bacterieziekte is het eerst beschreven door MCCULLOCH (13) in 1911. Zij vond de ziekte in Virginia. Later kwam de ziekte veel voor in Virginia, Californië, Florida en Long Island, doch ook in andere streken van de U.S.A. is zij waargenomen. In Europa werd de ziekte het eerst gevonden in Denemarken in 1922 (6). Later ook in Noorwegen (10), Finland (12), Bulgarije (2), Italië (1) en Rusland (22). Verder is de ziekte nog vermeld in Australië (4, 15, 16), Formosa (14), Algeria (5). Het is dus een ziekte met een wijd verspreidingsgebied, die zeer waarschijnlijk nog wel in meer landen zal voorkomen dan uit de literatuur bekend is.

De ziekte komt vooral voor op bloemkool, die er de meeste schade van kan ondervinden. In meer beperkte mate vond ik de ziekte ook op spruitkool en groene savoye kool. Een zeer geringe aantasting kwam voor op witte kool (figuren 1–4). Volgens de literatuur komt deze ziekte in alle koolsoorten voor en ook in koolrabi, koolraap, raap, radijs, ramanas (6, 9, 14). Het voorkomen op wilde *Cruciferae* wordt alleen vermeld door OKABE (14). Volgens CLAYTON (3) werd deze bacterie gevonden in maagdelijke gronden, volgens GOLDSWORTHY (7) in boomgaarden, waar geen Cruciferengewas had gestaan, hetgeen ook wijst op voorkomen van de ziekte op de wilde *Cruciferae*.

ISOLATIE- EN INOCULATIEPROEVEN

De bacterie is gemakkelijk te isoleren uit bladvlekjes. Het blad werd even gedompeld in alcohol 70 %, daarna afgespoeld met steriel water. Kleine stukjes van het zieke blad werden daarna gedurende zes uur in een buisje met steriel water gezet om de bacteriën de gelegenheid te geven zich in het water te verspreiden. Een druppel van deze bacteriesuspensie werd uitgestreken op bouillonagar. Dit gaf vrijwel een reincultuur van de ziekteverwekker. Eén kolonie hiervan werd geïsoleerd. De isolatie kreeg het nummer 110. Met deze isolatie werden jonge bloemkoolplantjes (Lecerf) geïnoculeerd. De planten waren 11 Mei gezaaid en 7 Juni werden de bladeren bespoten met een suspensie van de bacterie in water. De infectie geschiedt door de huidmondjes, aan beide zijden van het blad. Na de inoculatie werden de plantjes enkele dagen in een glazen kooi gezet, in een zeer vochtige atmosfeer, bij een temperatuur van 16–19 °C. Na drie dagen waren op de bladeren „vetvlekjes" te zien, $\pm$ 1 mm in doorsnede. Na enkele dagen werden de vlekjes in het midden necrotisch met een doorschijnende rand. Negen dagen na de inoculatie was het ziektebeeld gelijk aan dat van de zieke planten, die buiten gevonden waren. Soms zijn er ook vlekjes langs de randen van de bladeren, de infectie heeft dan plaats gevonden via de waterporiën. Bij hevige infectie trad bladmisvorming op. Na 2 à 3 weken werden delen van de zieke bladeren geel en gingen daarna afsterven. De bladeren vielen spoedig af. Uit de zieke bladeren werd weer een bacterie geïsoleerd, die dezelfde eigenschappen had als isolatie 110.

Ook Deense witte kool werd geïnoculeerd. Op de bladeren ontstonden enkele necrotische vlekjes, al of niet met een lichte rand.

Wij hadden slechts enkele volgroeide bloemkoolplanten tot onze beschikking om de „kool" te infecteren. Het gelukte ons niet om bij deze volgroeide kolen door bespuiting met een bacteriesuspensie, zonder verwonding, in het veld ziekteverschijnselen teweeg te brengen. Ook MCCULLOCH (13) vermeldt dergelijke negatieve resultaten. Volgens AGUSTONI (1) zou infectie alleen door wonden kunnen geschieden. SMITH (16) vermeldt, dat infectie van de „kool" na enige mislukkingen in de kas slaagde, doch dat de infectie, vermoedelijk tengevolge van de minder goede functionnering van de huidmondjes, minder gemakkelijk gaat dan bij de bladeren.

Het zou wel gewenst zijn in de zomer van 1951 alsnog te onderzoeken of de bacterie inderdaad de „kool" kan aantasten op het veld, daar beschadiging van de „kool" economisch belangrijker is dan beschadiging van de bladeren.

BESCHRIJVING VAN DE BACTERIE

Isolatie 110 had de volgende eigenschappen: korte staafjes met ronde uiteinden, afmetingen 1,5–2,5 × 0,5 – 0,7 μ, beweeglijk met polaire flagellen, geen sporen, Gramnegatief, aeroob.

Kolonies op agar wit, rond, glad, glinsterend, later vuilwit en met gegolfde rand.

Groei in bouillon: troebel, wit neerslag, geen vlies. Optimale groei bij 24 °C.

Gelatine: na één dag geringe vervloeiing te zien aan de oppervlakte, de vervloeiing gaat langzaam, kratervormig langs de steek.

Indolreactie: na lange tijd zwak positief (volgens OKABE (14) negatief). Nitraten niet gereduceerd.

H_2S niet gevormd (volgens ELLIOTT (5) en SMITH (16) zwakke H_2S vorming).

In lakmoesmelk NH_3-vorming (lakmoes wordt blauw), later reductie en peptonisatie, geen stremming.

In voedingsoplossingen met de suikers glucose, galactose, maltose, lactose en saccharose geen gas- of zuurvorming (GOLDSWORTHY (7) vermeldt zwakke zuurvorming in glucose). Met galactose als enig koolhydraatbron geen groei. Zetmeel wordt niet gesplitst.

De gevonden eigenschappen komen overeen met die van *Pseudomonas maculicola*.

BESTRIJDING

Zolang de ziekte hier slechts onder zeer bepaalde omstandigheden ernstig voorkomt is het in het algemeen niet nodig maatregelen ter bestrijding te nemen. Waar de ziekte optreedt tele men geen zaad van zieke planten, daar de ziekte met het zaad over kan gaan (WALKER, 21). Zaadontsmetting in warm water (30 minuten 50 °C) werkt gunstig (CLAYTON, 3, ELLIOTT, 5), maar de ziekte is zelden ernstig genoeg om dit noodzakelijk te doen zijn. Volgens ZHAVORONKOVA (22) werden ook gunstige resultaten verkregen bij zaadontsmetting met sublimaat (1 %, 10 minuten).

In ernstige gevallen is vruchtwisseling aan te bevelen. De bacterie kan in de grond lange tijd in leven blijven. GOLDSWORTHY (7) kon de bacterie nog aantonen in droge grond, die een jaar in flessen bewaard was. Goede onkruidbestrijding is dan ook van belang, om te voorkomen dat de ziekte zich in stand kan houden op wilde *Cruciferae*. Ook ziek plantenmateriaal dient opgeruimd te worden, daar de bacterie hierin lang in leven kan blijven. FERDINANDSEN (16) isoleerde de bacterie nog uit bloemkoolblad, dat $9\frac{1}{2}$ maand bewaard was in een herbarium.

Vooral voor het zaaibed kieze men onbesmette grond, dus grond waar enkele jaren geen Cruciferengewas heeft gestaan.

Om uitbreiding van de ziekte tegen te gaan wordt wel bespuiting met Bordeauxse pap aangeraden, doch dit zou volgens CLAYTON (3) niet effectief zijn.

SUMMARY

During the rainy summer of 1950 bacterial spot caused by *Pseudomonas maculicola* was found in the Netherlands on cauliflower and other *Brassica species*. Only cauliflower was seriously attacked.

The disease is characterized by an abundant stomatal blotching of the leaves.

The spots are at first water-soaked, the centre becomes necrotic, dark brown and after a few days brownish gray with a dark border, 1–3 mm in diameter. In transmitted light they show a light halo. The spots are circular when quite small but soon become more or less irregularly angular and coalescent (figs. 1–4). Sometimes distortion of the leaves occurs. Badly infected leaves turn yellow and drop after a few weeks. A discoloration of the heads of cauliflower was observed only occasionally. It is, however, not sure that it was caused by *Ps. maculicola*.

Undoubtedly the disease occurred also to some degree in former years in the Netherlands though the occurrence of this bacterial spot has never been reported with certainty. The more serious attack in 1950 is due to the abnormal rainy weather.

The disease is first described in 1911 by McCulloch (13). It occurs in several states of the U.S.A. and in Europe (1, 2, 6, 10, 12, 22). The disease has also been reported in Australia (4, 15, 16), Formosa (14) and Algeria (5), which means that the disease is spread widely and is likely to occur in more countries than is known from literature.

The bacterium attacks especially cauliflower, but I also found the disease on cabbage and Brussel sprouts. According to literature (6, 9, 14) other *Cruciferae* are also attacked.

The bacterium was easily isolated from spotted leaves. Inoculations of healthy leaves with the isolated bacterium gave a positive result Inoculation on a small scale of the heads of cauliflower in the field had a negative result. This experiment will be repeated.

The morphological and physiological properties of the isolated bacterium are described. They agree with those of *Ps. maculicola* (McCulloch) Stevens known from literature.

If the disease does not occur in a more serious way as up to the present it is not necessary to take measures of control against it. Where the disease is noticed it is recommended not to grow seed from diseased plants and croprotation is advised.

LITERATUUR

1. Agustoni, E.; Osservazioni e ricerchi sul „nerume" del Cavolfiore Riv. Pat. veg., 15: 305–315, 1935 (Rev. Appl. Myc. 15: 70, 1936.).
2. Atanasoff,D., Dodoff, D. M., Kovačevski, I. C., Martinoff, S. I., Trifonova, Mme V. and Christoff, A.; Parasitic fungi new to Bulgaria. Yearb. Univ. Sofia, Fac. Agr., 10: 341–366, 1932 (Rev. Appl. Myc. 11: 745, 1932).
3. Clayton, E. E.: Investigations of Cauliflower diseases on Long Island. N.Y. State Agr. Exp. Sta., Geneva N.Y., Bull. 506: 8, 1924.
4. Dowson, W. J.: Notes on some bacterial plant diseases in Tasmania. J. Pom. & Hort. Sci. 10: 301–305, 1932.
5. Elliott, C.: Manual of Bacterial Plant Pathogens, p. 152–153, 1930.
6. Ferdinandsen, C.; Bacterium maculicolum McCulloch paa europaeisk Grund. Beretning om Jordbrugsforskeres Kongres, Göteborg, Juni 1923, Nordisk Jordbrugsforskn. 5–8 Hefte.
7. Goldsworthy, M. C.; Studies on the spot disease of Cauliflower; a use of serum diagnosis. Phytopath. 16: 877–884, 1926.
8. Gram, E.; Maanedlige Oversigter over Sygdomme hos Kulturplanter fra Statens plantepatologiske Forsog, Juni 1925.

9. Gram, E. og Rostrup, S.; Oversigt over Sygdomme hos Landbrugets og Havebrugets Kulturplanter i 1924, Tidsskr. Planteavl, 31: 353–417, 1925.
10. Jørstad, I.: Beretning om Plantesykdommer i Land- og Havebruket 1922–1923, IV Landbruksvekster og Grønnsaker, Kristiania 1924.
11. L. C. P. Kerling; De anatomische bouw van bladvlekken. Diss. Utrecht 1928.
12. Krohn, V.; Die ersten Funde von *Phytomonas maculicola* McCulloch in Suomi. Phytopath. Z. 3: 531–532, 1931.
13. McCulloch, L.; A spot disease of Cauliflower. U.S. Dep. Agr., Bur. Pl. Ind. Bull. 225, 1911.
14. Okabe, N.; Bacterial diseases occurring in Formosa I. J. Soc. Trop. Agr. 4: 477–479, 1932.
15. Parham, B. E. V.; Central Agricultural Division, Annual Report for 1937, Ann. Bull. Dep. Agr. Fiji: 37–49, 1938 (Rev. App. Myc. 18: 91, 1939.).
16. Smith, E. F.; An introduction to bacterial diseases of plants: 300–313, 1920.
17. Spierenburg, D.; Plantenziektenkundige waarnemingen IV, kool: Rotstronken, Stippel- en Randjeskool. Versl. en Med. P.D. 35, 1924.
18. Stevens, F. L.; Plant disease fungi, p. 29, 1925.
19. Verslag over de werkzaamheden van de Plantenziektenkundige Dienst in de jaren 1920 en 1921. Versl. en Med. P.D. 27, 1922.
20. ——— in het jaar 1925, Versl. en Med. P.D. 44, 1926.
21. Walker, J. C.; Diseases of Cabbage and related Plants. U.S. Dep. Agr., Farmers' Bull. 1439: 30, 1944.
22. Zhavoronkova, I. P.; Bacteriosis of the Cauliflower, Pl. Prot. Leningrad, 6: 116–126, 1935 (Rev. App. Myc. 15: 696, 1936.).

ERIOPHYES GRACILIS NAL., ALS VERWEKKER VAN GELE BLADVLEKKEN OP FRAMBOOS [1])

With a summary: Eriophyes gracilis Nal. and yellow leaf spots on raspberry

DOOR

Dr Ir J. B. M. van Dinther

Laboratorium v. Entomologie van de Landbouwhogeschool, Wageningen

INLEIDING

Bij frambozenplanten komen op de bladeren herhaaldelijk geelgekleurde plekken voor, die geen gebreksymptomen zijn, doch veroorzaakt worden door virusziekten, door de frambozenmijt *Eriophyes gracilis* Nal., of door een combinatie van beide.

Met het oog op de selectie van virusvrij plantmateriaal is het van groot belang, dat een juist onderscheid gemaakt kan worden tussen de bladverkleuring tengevolge van een virusaantasting en de verkleuring door mijtenbeschadiging, immers zolang dit niet is vastgesteld, bestaat er een grote kans, dat totaal doelloze selectiemaatregelen worden genomen. Ook een bespuiting met Californische pap tegen mijt heeft alleen zin, indien de gele bladvlekken inderdaad door mijten worden veroorzaakt en niet het gevolg zijn van een virusaantasting.

[1]) Ontvangen voor publicatie 22-12-1950.

In de practijk blijkt nu dat het vaak lastig is de optredende bladverkleuringen juist te interpreteren; het gevolg hiervan is, dat vaak foutieve bestrijdingsmaatregelen worden genomen. Om dit te voorkomen, zal in het onderstaande de levenswijze van de frambozenmijt, *E. gracilis*, besproken worden, terwijl daarbij speciale aandacht zal worden besteed aan de door deze mijt veroorzaakte gele bladvlekken.

MATERIAAL EN TECHNIEK

Het frambozenmateriaal was afkomstig uit de proeftuin van het Instituut voor de Veredeling van Tuinbouwgewassen te Wageningen, alsmede uit aanplantingen van particuliere telers in de omgeving Opheusden-Kesteren; tevens werden elders incidentele observaties verricht, o.a. in het Bredase.

Hoewel *E. gracilis* met behulp van een loupe (8–10 ×) in het vrije veld op het plantenweefsel wel te onderscheiden is, moet toch voor waarnemingen op grote schaal een binoculair (15 ×) gebezigd worden.

Een snelle manier om bladeren op de aanwezigheid van mijt te onderzoeken is de volgende: men observeert het blad bij doorvallend licht; het binoculair wordt hiertoe gemonteerd op een ± 15 cm hoge lichtbak, waarin zich een 60-Watt lamp bevindt, die zijn stralen via een aan de bovenzijde van de bak aangebrachte melkglasplaat in het binoculair-objectief werpt. Een tussen lichtbron en objectief gehouden frambozenblad wordt nu helder doorgelicht, terwijl de eventuele aanwezige mijten tegen het verlichte bladweefsel donkergeel tot bruin afsteken.

Voor het maken van preparaten, nodig ter determinatie van de soort, werd de volgende werkwijze toegepast. In een kleine druppel chloral-phenol op een voorwerpglaasje worden ongeveer een 100-tal mijten gebracht; na het afdekken met een dekglaasje wordt enkele seconden boven een kleurloze vlam verwarmd, waardoor de lichaamsinhoud van de mijten spoedig, en wel meestal door de genitale opening, naar buiten komt. De mijten kunnen nu met behulp van een olie-immersie onderzocht worden. Houdbare preparaten maakt men op deze wijze natuurlijk niet. Indien men dit wel wenst, wordt een uitgebreide techniek vereist (zie HASSAN, 2).

SYSTEMATIEK EN MORPHOLOGIE

De systematische plaats van de frambozenmijt *E. gracilis* NAL. is de volgende: klasse *Arachnida*, orde *Acarina*, fam. *Eriophyidae*. De vertegenwoordigers van deze familie, die de zgn. galmijten omvat, zijn zeer kleine dieren, die uitsluitend parasitisch leven op planten, waarbij vaak tevens bepaalde plantendelen gedeformeerd worden.

Het voorste lichaamsgedeelte van de mijt, de cephalothorax, is kort en breed en sluit aan op het sterk in de lengte ontwikkelde, taps-toelopende abdomen, waarvan de chitinehuid een groot aantal regelmatig achter elkaar gerangschikte ringvormige groeven vertoont.

De cephalothorax is aan de rugzijde gewelfd en vormt hier het zgn. cephalothorax-schild. Ventraal staan, ook bij de volwassen mijt, slechts twee paar zes-ledige poten ingeplant; de beide achterste potenparen zijn geheel afwezig. De poten dragen aan het uiteinde een geveerd haar, dat als hechtorgaan dient. Mediaan bevindt zich aan de lichaamsvoorrand een paar twee-ledige maxillaire palpen met daar tussenin het rostrum, waarbinnen in rusttoestand een mandibulair stiletten-paar is opgeborgen.

Ventraal, bij de basis van het abdomen, ligt de geslachtsopening: bij het wijfje steekt het enigszins half cirkelvormige epigynium een weinig uit; bij het mannetje is de genitale opening veel kleiner en moeilijker waar te nemen.

Het abdomen eindigt in een stomp zuignapvormig uitstecksel, waarop zich verticaal twee ovale kleine kleppen bevinden, waarmede de mijt zich aan het plantenweefsel kan vasthechten. Dit abdomenuiteinde draagt dorsaal twee zeer lange staartharen, de zgn. setae caudales, en soms nog twee kleine setae accessoriae. Verder komen over het lichaam verspreid nog enkele regelmatig en paarsgewijs gerangschikte haren voor, die voor de systematiek van de soorten van waarde zijn. Zo b.v. ventraal op het abdomen drie paar setae ventrales, op het cephalothorax-schild één paar setae dorsales en op het epigynium de setae genitales.

Hoe moeilijk het vaak is de *Eriophyiden*-soorten te onderscheiden, blijkt b.v. uit het feit, dat *Eriophyes essigi* HASSAN, de mijt die de rode vruchtziekte bij bramen veroorzaakt, gedurende lange tijd als *E. gracilis* NAL. werd gedetermineerd. (ESSIG, 1). Van *E. gracilis* geeft NALEPA (4) de volgende beschrijving:

„Körper klein, spindelförmig, Schild halbkreisförmig, im Mittelfeld 3 Längslinien, welche jederseits von sich gabelnden Bogenlinien begleitet sind; Seitenfelder granuliert. Setae dorsales so lang wie der Schild, vom Hinterrand entfernt. Glied 4 und 5 der Beine fast gleich. Fiederklaue 5 strahlig... Abdomen mit ca 80 Ringen. Setae ventrales I lang, zart, Setae ventrales II etwa so lang wie die Setae ventrales III, welche den Schwanzlappen überragen. Setae caudales lang, Setae accessoriae kurz, steif... Setae genitales mittellang. – ♂ 100 μ l., 30 μ br.; ♀ 120 μ l., 30 μ br."

De morphologie van *E. essigi* komt hiermede practisch geheel overeen en slechts de volgende detailverschillen kunnen worden aangetoond (HASSAN, 2): het geveerde haarvormig tarsuitsteeksel is bij *essigi* vier-ledig, bij *gracilis* vijf-ledig geveerd, terwijl bij *essigi* de setae accessoriae ontbreken. De kleur van *gracilis* is lichtgeel tot geelbruin, van *essigi* in het algemeen van een doorschijnend wit.

BIOLOGIE

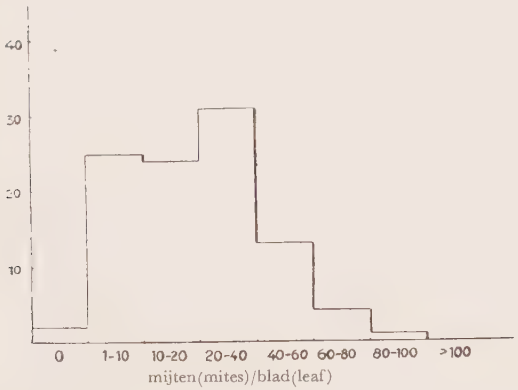
a. Verband tussen de gele bladvlekken en het optreden van E. gracilis. Bij het onderzoek naar de levenswijze van *E. gracilis* werden medio Mei 1950 op het I.V.T.-proefterrein te Wageningen speciaal bij het ras Indian Summer frambozenstruiken aangetroffen, waarvan meerdere bladeren eigenaardige gele vlekken vertoonden. Op de blad-onderzijde bleken de bovengenoemde galmijten aanwezig te zijn.

Half Juni werden bij dit ras mijtentellingen verricht. Van 100 bladeren, die ook maar op enigerlei wijze gele vlekken vertoonden, werden de mijtenaantallen per blad geregistreerd. De bladeren waren afkomstig van de jonge vegetatieve voorjaarsscheuten, doch werden overigens geheel willekeurig van een tiental in een rij staande struiken geplukt. Voor de mijtenaantallen werd als groepindeling gekozen: 0, 1–10, 10–20, 20–40, 40–60, 60–80, 80–100 en meer dan 100 (> 100) mijten per blad. De waarnemingen zijn verwerkt in grafiek I.

Begin Augustus werden de tellingen op analoge wijze bij dezelfde struiken herhaald. De resultaten zijn in grafiek II weergegeven.

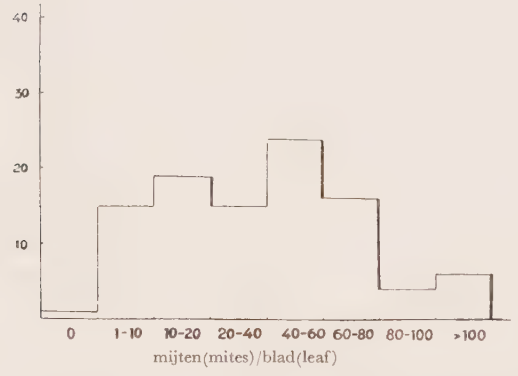
Aantal bladeren
(number of leaves)

Grafiek I



Aantal bladeren
(number of leaves)

Grafiek II



Uit beide grafieken blijkt het volgende:

Half Juni treft men op de meeste bladeren mijten aan, in aantal variërend van ongeveer 10-40 mijten/blad. Begin Augustus komen veel minder bladeren voor met mijten-aantallen kleiner dan 40 per blad dan in Juni; bij een groot aantal bladeren varieert het mijtenaantal van 40–80 mijten/blad, terwijl zelfs 10 % meer dan 80 mijten/blad bevat. Het aantal mijten in de aanplant is gedurende de zomermaanden aanzienlijk toegenomen.

Bij observatie van de frambozenstruiken in Augustus bleek zeer duidelijk, dat het aantal bladeren, dat gele verkleuringen vertoonde, ook veel groter was dan enige maanden tevoren Een direct verband tussen de gele bladvlekken bij Indian Summer en de aanwezigheid van mijten was dus wel zeer waarschijnlijk. Uit de grafieken I en II blijkt bovendien, dat slechts in 2 % van de waarnemingen gele bladvlekken werden gevonden zonder dat de aanwezigheid van mijten geconstateerd kon worden. In alle overige gevallen gaan mijt en bladverkleuring samen.

Om evenwel nauwkeuriger na te gaan of er inderdaad een samenhang bestaat tussen de hier gevonden gele vlekken en de op de bladeren voorkomende *E. gracilis*, werden van bladeren, die één of meerdere gele plekken vertoonden, deze plekken uitgeknipt. Van de bladstukken werd op doorzichtig papier de omtrek getekend en met behulp van een ruitverdeling van 0,25 cm², het oppervlak berekend. Het doorzichtige papier werd hiertoe op de ruitverdeling gelegd; oppervlakte-eenheden kleiner dan 0,25 cm² werden geschat. Op gelijke wijze werd ook van het overblijvende gezonde groene bladgedeelte het oppervlak gemeten, terwijl daarna per blad, zowel op het geelgekleurde als op het groene bladgedeelte, het aanwezige aantal mijten werd bepaald. In tabel 1 zijn de resultaten van het onderzoek, dat einde Juli bij vijftien bladeren werd verricht, weergegeven:

Tabel 1.

Groen bladopp. in cm² *Green coloured leaf surface in cm²*	Aantal mijten *Number of mites*	Mijten/cm² = x *Mites/cm²*	Geel bladopp. in cm² *Yellow coloured leaf surface in cm²*	Aantal mijten *Number of mites*	Mijten/cm² = y *Mites/cm²*
50,00	10	0,2	4,00	42	10,5
27,00	5	0,2	0,75	2	2,7
36,25	3	0,1	4,25	40	9,4
8,25	1	0,1	8,75	11	1,2
19,75	3	0,2	1,75	10	5,7
50,50	5	0,1	11,25	22	1,9
43,50	3	0.1	4,75	29	6,1
75,25	25	0,3	8,00	63	7,9
6.25	8	1,3	2,50	50	20,0
67,75	15	0,2	20,50	108	5,3
58.25	36	0,6	0,50	13	26,0
23,25	5	0,2	0,75	10	13,3
12,75	4	0,3	0,75	0	0,0
29,50	0	0,0	1,00	1	1.0
9,25	6	0,6	6,00	135	22,5

Hieruit blijkt:

1. Tussen het gemiddeld aantal mijten per cm² groen bladoppervlak (0,3 ± 0,08) en het gemiddeld aantal mijten per cm² geel gekleurd bladoppervlak (8,9 ± 2,12) bestaat een absoluut betrouwbaar verschil.
2. Tussen het aantal mijten voorkomend op het geelgekleurde bladgedeelte en de oppervlakte van dit gele bladgedeelte bestaat een betrouwbare correlatie; de correlatie coëfficient (0,59) geeft met bijbehorende standaardafwijking (0,22) een zekerheidscoëfficient van 2,7.
3. Het verband tussen de grootte van het aangetaste geelgekleurde bladoppervlak en het daarop aanwezige mijtenaantal is evenwel niet lineair (regelmatig); de variatiecoëfficient van y is hoog (24 %).

Bovendien werden nog normale groene bladeren, die nergens vleksymptomen vertoonden, onderzocht. Het bleek, dat op verscheidene van deze bladeren wel mijten voorkwamen, doch de mijtendichtheid (aantal mijten per cm²) varieerde van 0,0–0,7, hetgeen wat orde van grootte betreft, geheel aansluit bij de gevonden x-waarden in tabel 1.

De slotconclusie is dus, dat de gele vlekken, voorkomend op de bladeren van de voor deze proeven genomen frambozenstruiken, werden veroorzaakt door *Eriophyes gracilis*. Ter bestudering van de door de mijten veroorzaakte vergelingssymptomen, werden nu ook speciaal deze struiken in observatie genomen.

b. Levenswijze van *E. gracilis*. Terwijl in de natuur de frambozenknoppen omstreeks eind Maart–begin April reeds bij betrekkelijk lage temperatuur (± 10 °C) uitbotten, blijven de mijten bij deze temperatuur nog verscholen tussen de buitenste knopschubben en onder de oude bladsteelbases, waar ze, zoals wij zullen zien, de winter hebben doorgebracht. Eerst in de tweede helft van April, als de temperatuur overdag geregeld tussen 17 en 20 °C stijgt, verschijnen de eerste mijten, die zich langs de inmiddels uitgegroeide bladstelen naar de jonge blaadjes begeven. Begin Mei hebben de mijten hun schuilhoeken verlaten en bevinden ze zich vrij op het jonge bladweefsel, dat na enkele weken de eerste gele bladver-

kleuringssymptomen vertoont, terwijl de mijten verder zijn aan te treffen op de houtige stengels en de bladstelen. Half Mei bevinden ze zich vnl. geconcentreerd op de onderzijde van de bladeren, doch ook treft men nog meerdere mijten verspreid aan op de houtige stengels, bladstelen en bloemknoppen. Als deze laatsten zich begin Juni openen vindt men mijten op de kelkblaadjes, meeldraden en stampers. In tegenstelling tot de mijten, die zich op de bladonderzijde bevinden en zich daar hebben vastgezogen, zijn de mijten op de overige plantendelen meestal in beweging en onderweg naar hun definitieve zuigplaats: de onderzijde van het frambozenblad.

Gelijktijdig met het uitbotten van de knoppen lopen ook één of meerdere ogen van de wortelstok uit en de opschietende vegetatieve nieuwe scheuten nemen snel in lengte toe. Hoewel aanvankelijk mijtenvrij, komen ze na enige tijd in contact met de reeds geïnfecteerde bladeren van het tweejarige hout, en de mijten hebben dan alle gelegenheid van hieruit op de jonge voorjaarsscheuten over te kruipen. De mijten, die door hun geringe lichaamsafmeting weliswaar nimmer vanaf een reeds aangetaste plant naar een nog gezonde en geïsoleerd staande struik kunnen kruipen, zijn zeer zeker in staat door actieve verplaatsing de infectiehaard uit te breiden, indien de gezonde en de geïnfecteerde planten zo dicht opeen staan, dat stengels en bladeren wederzijds met elkaar in contact komen. Op deze wijze worden dan ook elk jaar in de frambozenaanplant de jonge opkomende scheuten vanuit het tweejarig hout geïnfecteerd. Ook een passieve verspreiding door de wind zal ongetwijfeld nieuwe infecties veroorzaken.

Zijn einde Mei en in Juni de gele vlekken op het blad van de tweejarige scheuten nog groter en talrijker dan op de bladeren van het jonge opkomende hout, later in de zomer vertonen de inmiddels krachtig opgeschoten eerste-jaars stengels de sterkste geelkleuring en grootste mijtenpopulatie. De verklaring hiervoor is, dat na de ontwikkeling van de vruchten aan het tweejarige hout, het blad hier langzaam begint te verdrogen en evenals de gehele tweejarige scheut geleidelijk afsterft. De op deze bladeren aanwezige mijten komen nu in een ongunstige situatie – de voedselbron droogt op – en hun ontwikkeling stopt op de duur. Een deel slaagt er nog in op de bladeren van de eerste-jaars scheuten over te kruipen, de rest gaat dood. De mijten, die daarentegen op de voorjaarsscheuten voorkomen en aanvankelijk quantitatief verre in de minderheid zijn, hebben de beschikking over jong saprijk bladweefsel en halen snel deze achterstand in. Door deze ontwikkeling (zie ook de grafieken I en II) zijn einde Augustus grote aantallen aanwezig en de populatie bereikt spoedig haar maximum. Mijten, zowel larven als imagines, komen in aantallen van 100 tot 200 per blad en zelfs groter, geregeld voor.

In de eerste helft van September begint nu een massale mijtenverplaatsing; geleidelijk verlaten vele mijten de bladeren, kruipen over de bladnerven en komen op de bladstelen terecht. In de oksel van de bladsteel aangeland, hopen ze zich op in de nauwe ruimte tussen bladsteelbasis en okselknop, en hier vindt men half September honderd en meer mijten dicht bijeen.

De mijten verschuilen zich voor de komende winterperiode evenwel niet alleen buiten de okselknoppen, doch vele dringen ook tussen de randen van de vaak wat minder dicht aaneensluitende buitenste knopschubben naar binnen om daar beschutting te zoeken. Ze slagen er echter niet in zich tussen de tere blaadjes en de in aanleg aanwezige bloeiwijze te nestelen, zodat dit door de binnenste knopschubben goed omsloten gedeelte, geheel mijtenvrij blijft. In tabel 2 zijn de mijtenaantallen vermeld van een tiental okselknoppen, die half September onderzocht werden.

Tabel 2.

Buiten de okselknop: *Outside the axillary bud*	81	50	262	20	98	16	176	65	61	208
Binnen de okselknop: *Inside the axillary bud*	23	36	102	1	213	28	78	5	24	47

Het is opvallend, dat de mijten, die in de herfst de bladeren verlaten, zich alleen verschuilen op of tussen het levend weefsel van de knoppen en nimmer tussen eventuele spleten en oneffenheden van de dode schors; het feit dat het in de nazomer afgestorven tweejarig hout dan ook geheel mijtenvrij is, sluit hierbij aan.

Begin November begeven zich nog steeds mijten vanaf de bladeren naar de okselknoppen, en zowel binnen als buiten de knopschubben neemt hun aantal gestadig toe. Mijtenophopingen variërend van 300–800 mijten per knop en meer, komen soms voor; deze zijn dan met het blote oog als rose-geel gekleurde groepjes zichtbaar.

De grote meerderheid van de mijten brengt de winter door als imago. Uit een onderzoek naar de sexe-verhouding bleek, dat deze imagines uitsluitend wijfjes zijn. Ook kunnen bij de okselknoppen andere mijten dan *E. gracilis* worden aangetroffen. Zo vond de schrijver enkele mijten behorend tot een *Tarsonemus*- en een *Tyroglyphus*-species.

Half November vallen de frambozenbladeren af; slechts een kort basisgedeelte van de bladsteel blijft aan de houtige eenjarige scheut zitten. De gedurende de wintermaanden onder dit bladsteelfragment diep weggekropen mijten bevinden zich, evenals de mijten tussen de knopschubben, in een latente toestand. Bij overbrenging op een temperatuur van b.v. 20 °C worden ze weer spoedig actief en verlaten hun schuilhoek. In de natuur loopt eerst het volgend voorjaar, omstreeks de tweede helft van April, de temperatuur voldoende hoog op om de mijten te activeren.

SYMPTOMATIEK

a. Microscopisch onderzoek van het aangetaste blad. Voor een onderzoek van de door mijten aangetaste bladgedeelten werden van de geelgekleurde bladstukken coupes gemaakt, die vergeleken werden met coupes uit gezond, mijtenvrij bladweefsel. Om bladverschillen te elimineren, werden steeds een aangetast geelgekleurd bladstuk en een niet-aangetast groen bladgedeelte, beide afkomstig uit ongeveer dezelfde bladzône van één en hetzelfde frambozenblad, met elkaar vergeleken.

De coupes werden uit de hand gesneden en ingesloten in glycerine-alcohol, terwijl de in tabel 3 vermelde metingen zoveel mogelijk verricht werden aan coupegedeelten van gelijke dikte.

Uit deze anatomische waarnemingen, bij twee bladeren A en B gedaan, blijkt:

1. De hoogte van de dwarsdoorsnede door een niet-aangetast bladstuk is tengevolge van de betere ontwikkeling van het parenchymatische weefsel, een weinig groter dan van een door mijten aangetast gedeelte. ($\bar{v}_{A'-A} = 15{,}39 \pm 2{,}51\,\mu$; $\bar{v}_{B'-B} = 10{,}72 \pm 2{,}82\,\mu$).
2. Een betrouwbaar verschil tussen het aantal epidermisharen van een niet-aangetast bladstuk en van een door mijten aangetast bladgedeelte, kon niet gevonden worden. ($\bar{v}_{A'-A} = 1{,}29 \pm 0{,}94$; $\bar{v}_{B'-B} = 1{,}71 \pm 1{,}19$).

Grote opvallende morphologische verschillen zijn dus niet aan te wijzen. Soms vertonen de nerven van de frambozenbladeren, die door mijten geïnfecteerd zijn, plaatselijk kleine, onregelmatige, knobbelvormige uitwassen. Hier zijn de schorsparenchymcellen een weinig uitgegroeid, doch de cellen blijven parenchymatisch en verhouten of verkurken niet (phloroglucine- en Soedan III kleuring negatief). Van enige bladgalvorming, zoals deze in vele uiteenlopende vormen door de meeste *Eriophyidae* op verschillende andere gewassen veroorzaakt wordt, is bij *Eriophyes gracilis* geen sprake.

Tabel 3.

A – aangetast bladstuk (geel)
infested leaf area (yellow coloured)

Dikte van coupe *Thickness of leaf section*	Hoogte van dwarsdoorsnede door blad *Width of cross section through leaf*	Hoogte van bovenepidermis *Width of upper epidermis*	Hoogte van palissade parenchym *Width of palisade parenchyma*	Hoogte van sponsparenchym *Width of spongy parenchyma*	Hoogte van beneden epidermis *Width of lower epidermis*	Aantal haren v. beneden epidermis over afstand van 360 µ *Number of hairs on the lower epidermis for each* 360 µ
20 µ	79 µ	14 µ	29 µ	25 µ	11 µ	7
20	79	11	32	29	7	6
20	86	14	32	31	9	7
18	79 (77,57 ±1,84	15	29	24	11	3 (6,0 ±0,72)
20	72	14	32	17	9	5
20	76	18	25	26	7	5
20	72	18	29	16	9	9

A' – niet aangetast bladstuk (groen)
Non infested leaf area (green coloured)

18 µ	83 µ	11 µ	29 µ	32 µ	11 µ	8
20	94	14	32	37	11	10
20	97	14	36	38	9	8
23	94 (92,96 ±1,70)	11	32	44	7	7 (7,29 ±0,61)
18	94	14	43	28	9	6
23	94	18	40	25	11	5
20	94	14	46	27	7	7

B - aangetast bladstuk (geel)
Infested leaf area (yellow coloured)

20 µ	76 µ	14 µ	25 µ	28 µ	9 µ	4
18	68	14	22	25	7	8
20	68	15	29	15	9	4
23	76 (73,57 ±1,67)	14	32	23	7	10 (7,0 ±0,98)
20	76	14	25	30	7	6
20	79	14	36	22	7	7
18	72	13	29	21	9	10

B' – niet aangetast bladstuk (groen)
Non infested leaf area (green coloured)

20 µ	79 µ	14 µ	32 µ	26 µ	7 µ	7
18	79	11	29	32	7	7
23	79	14	29	29	7	12
20	94 (84,29 ±2,27)	14	32	39	9	9 (8,71 ±0,68)
23	90	11	36	36	7	8
20	83	15	29	32	7	10
20	86	15	36	26	9	8

Fig. 1. Door mijten aangetast frambozenblad – Type I (ras Indian Summer)
Mite infested raspberry leaf – Type I (variety Indian Summer)

Fig. 2 Door mijten aangetast blad – Type II (ras Indian Summer)
Mite infested leaf – Type II (variety Indian Summer)

Fig. 3. Zwaar door mijten aangetaste bladeren (ras Radboud)
Heavily mite infested leaves (variety Radboud)

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4. Begin-symptomen van virusaantasting langs de nerven (ras Sint Walfried)

Early symptoms of vein clearing caused by a virus (variety Sint Walfried)

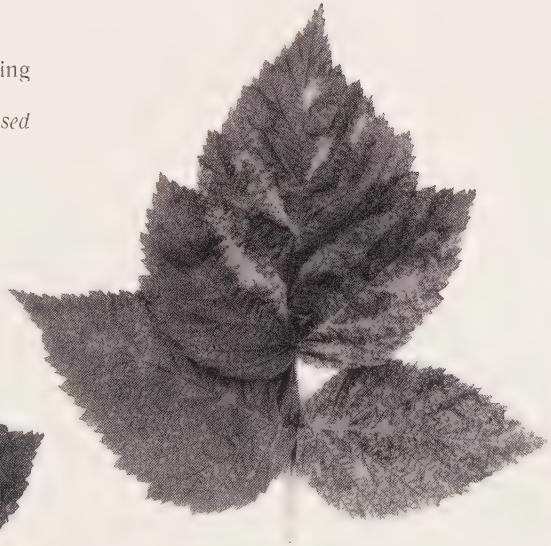


Fig. 5

Topblad met begin-symptomen van virusaantasting; blad rechts onder reeds sterk aangetast (ras Sint Walfried)

Leaflet at top with early virus symptoms; lower right-hand leaflet already heavily infected (variety Sint Walfried)

Fig. 6. Duidelijk zichtbare virussymptomen: langs de nerven gele zônes (ras Sint Walfried)

Clearly visible symptoms of vein clearing caused by a virus (variety Sint Walfried)

b. Bestudering van de gele bladsymptomen door waarnemingen in het vrije veld. Het is van groot belang, dat een door mijten aangetaste frambozenstruik als zodanig kan worden onderkend en van een viruszieke plant kan worden onderscheiden. In het nu volgende zullen de door de mijten veroorzaakte bladverkleuringen besproken worden, zoals deze zich in de aanplant manifesteren.

De mijten, die de winter in en bij de okselknoppen hebben doorgebracht, kruipen, nadat in het voorjaar de knoppen zijn uitgebot, op het jonge bladweefsel over. Ongeveer half Mei zullen nu, tengevolge van het zuigen van de mijten, op meerdere bladeren de eerste gele vleksymptomen zichtbaar worden. Op de bovenzijde van het frambozenblad aan het tweejarige hout neemt men één of meerdere geelgroene vlekjes waar, die niet tot bepaalde bladgedeelten gelocaliseerd zijn, doch die op iedere plaats van de bladschijf kunnen voorkomen. Ze worden in de volgende maanden groter van omvang terwijl, zowel op de reeds geïnfecteerde bladeren als op de nog niet aangetaste bladeren van het tweejarig hout, tevens nieuwe gele vlekken kunnen verschijnen. Naarmate de mijten zich vermenigvuldigen en verspreiden, neemt men omstreeks de eerste helft van Juni ook op de bladeren van de inmiddels sterk opgeschoten nieuwe voorjaarsscheuten de eerste gele vlekken waar, die eveneens in de loop van de zomer in aantal en grootte toenemen.

Juist bij het frisse groene blad van deze jonge eerste jaars-scheuten vallen de vlekken, die wat vorm en grootte betreft variabel zijn, duidelijk op.

In het algemeen zijn bij de geïnfecteerde frambozenstruik twee gele-vlek typen te onderscheiden:

I. De vrij scherp omlijnde kleine vlek, die in een groter of kleiner aantal op de bladschijf aanwezig kan zijn. Zie fig. 1.
II. De minder scherp begrensde grote(re) vlek, die op elke plaats van de bladschijf kan voorkomen, doch speciaal bij de rand en langs de nerven. Zie fig. 2 (beide linker jukbladeren).

Beide typen komen naast elkaar voor, doch tevens zijn overgangsvormen waar te nemen. Type I moet beschouwd worden als het beginsymptoom van een aantasting, waarbij een klein aantal mijten plaatselijk dicht bijeen zit. Naarmate zij zich meer verplaatsen en vermenigvuldigen, ontwikkelt zich een vlek van type II.

In Augustus en later in het seizoen kunnen op meerdere frambozenbladeren grote aantallen mijten voorkomen, die een belangrijk gedeelte van deze bladeren hebben aangetast (zie fig. 3). De intensiteit van de bladverkleuring is dan vaak niet overal gelijk; sommige gedeelten zijn groen-geel, andere stukken meer hardgeel getint.

Werd in het voorgaande steeds gesproken over gele verkleuringen welke aan de bovenzijde van het blad zichtbaar zijn, ook de bladonderzijde kan typische symptomen van aantasting vertonen. Deze zijn evenwel alleen aan te treffen op die plaatsen, waar, tengevolge van een gelocaliseerde grote mijtendichtheid of een langdurige infectie, sprake is van een intensieve aantasting, hetgeen natuurlijk tevens weer samengaat met een sterke geelkleuring aan de bladbovenzijde. Op de onderkant van het blad komen nu lichtgroen gekleurde plekken voor, die de indruk maken alsof de beharing van de epidermis, die elders op het niet- of slechts zwak geïnfecteerde bladgedeelte als een grijze viltlaag over het donkergroene bladweefsel ligt, sterk gereduceerd is. Van een „kaalvraat" of een „wegvreten" van de epidermis-haren door de mijten, die voorzien zijn van stekend-zuigende

monddelen, kan natuurlijk geen sprake zijn, hetgeen bevestigd wordt door een anatomisch bladonderzoek (zie pag. 87).

De lichtgroene plekken hebben, daar ze beperkt blijven tot de sterkst geïnfecteerde gedeelten, uiteraard een veel beperkter omvang dan de op de bovenzijde van het blad voorkomende gele vlekken. Zelfs bij sterk met mijten bezette struiken komen meestal maar weinige bladeren voor, waarvan de onderzijden uitgestrekte aangetaste plekken vertonen.

Om uit te maken of men met een mijtenaantasting te doen heeft, mag men zich bij het onderzoek niet beperken tot enkele bladeren die een geelkleuring vertonen. Het totaalbeeld van één of meerdere frambozenstruiken is bepalend. Eventueel kan men na verloop van enige weken de aanplant nogmaals inspecteren, zodat een inzicht verkregen wordt in de wijze, waarop de reeds eerder waargenomen gele vlekken zich verder hebben ontwikkeld.

Dat het trekken van een conclusie, welke alleen gebaseerd is op een geelkleuring bij een beperkt aantal bladeren, gevaarlijk is, kan worden gedemonstreerd aan het op fig. 5 afgebeelde samengestelde blad, dat afkomstig is van het ras Sint Walfried uit een in Juni 1950 geobserveerde aanplant in de Over-Betuwe. Het topblad vertoont hier verscheidene verspreid liggende vlekken, die een overeenkomst vertonen met de door mijten veroorzaakte vlekken van het reeds eerder beschreven type II. Meerdere bladeren uit deze aanplant lieten destijds dergelijke vlekken zien. Zou men, afgaande op deze waarnemingen, de conclusie trekken dat de struiken aangetast waren door *E. gracilis*, dan kwam men wel zeer bedrogen uit. Een bladonderzoek in het laboratorium toonde nl. aan, dat alle Sint Walfried struiken volkomen mijtenvrij waren! Bij nauwkeuriger observaties in de aanplant werden echter tegelijkertijd bladeren aangetroffen (fig. 4 en 6), waarbij zeer duidelijk langs een groot aantal nerven smalle geel gekleurde zônes te zien waren. Dit karakteristieke verschijnsel, dat geheel afwijkt van de door de mijten veroorzaakte verkleuringen, kon door Dr HARRIS (East Malling) direct als het symptoom van een virusaantasting herkend worden. Vergelijkt men nu de figuren 4, 5 en 6 onderling, dan is het duidelijk, dat ook de gele vlekken van het topblad, afgebeeld in fig 5, veroorzaakt zijn door deze virusinfectie.

Uit dit voorbeeld moge volgen, hoe belangrijk het is, dat men zich eerst een totaalbeeld vormt van de vergelingsverschijnselen, alvorens tot een bepaalde conclusie te komen. Zelfs in een frambozenaanplant, die virusziek is en tegelijkertijd nog door mijten is aangetast, blijkt het op deze wijze mogelijk, de respectievelijke symptomen uit elkaar te halen. Bovendien kunnen altijd ter contrôle enkele bladeren bij doorvallend licht met behulp van een zakloupe (8 × of sterker) op de aanwezigheid van mijten onderzocht worden, terwijl eventueel in de wintermaanden de knoppen bekeken kunnen worden.

SCHADELIJKHEID

Om de vraag te kunnen oplossen of *E. gracilis* schadelijk is voor de frambozencultuur, is in de eerste plaats nagegaan of de door de mijten aangetaste en geelgekleurde bladstukken, door het uitschakelen van de assimilatiefunctie, voor de plant waardeloos zijn.

Op een zonnige dag werden bladeren, die de door de mijten veroorzaakte geelkleuringen te zien gaven, omstreeks 2 uur in de middag afgesneden en afzonderlijk

op papier nagetekend; de omtrek van de aanwezige vlekken op de bladschijf werd daarbij nauwkeurig aangegeven. Hierna werden de bladeren eerst gedood (gedurende $\frac{1}{2}$–1 minuut in kokend water), daarna gedurende 1 minuut in kokende alcohol chlorophyl-vrij gemaakt om tenslotte in een JJK-oplossing te worden overgebracht. Door elk blad na de jodiumkleuring te vergelijken met zijn oorspronkelijk vergelingspatroon blijkt, dat juist de geelgekleurde bladgedeelten intenser donker zijn dan het normale omliggende groene bladweefsel. De gele bladstukken zijn, speciaal bij doorvallend licht, donker tot zwart, de mijtenvrije gedeelten daarentegen meer bruin getint. Binnen het zwarte weefsel ligt evenwel soms een plek, die in het geheel niet kleurt met JJK. Voert men deze proef van SACHS uit bij bladeren, die in de vroege morgenuren afgesneden zijn, dan blijken de gele bladstukken slechts een weinig te kleuren.

De intensieve donkerkleuring van de gele bladgedeelten kan nu zo verklaard worden, dat hier tengevolge van de mijtenactiviteit de afvoer van het tijdens de assimilatie gevormde zetmeel minder snel verloopt dan bij het bladweefsel dat niet door de mijten is aangetast, met als gevolg een sterkere ophoping. Bij de binnen het zwart gekleurde weefsel gelegen kleurloze plek, die vóór de proef ter plaatse aan de bladonderzijde een geelgroene verkleuring te zien geeft, is de invloed van de mijten kennelijk zo hevig geweest, dat het normale assimilatieproces niet meer heeft plaats gevonden. Afgezien van deze zwaar aangetaste plekken, die overigens slechts een klein gedeelte van het blad innemen, kan worden aangenomen, dat de geel gekleurde bladstukken bijdragen tot het assimilerend vermogen van de plant en zeker niet waardeloos zijn.

Wat nu de invloed betreft van de frambozenmijt op de overige plantendelen, kan het volgende geconstateerd worden:

Terwijl *Eriophyes essigi* HASSAN de rode vruchtziekte bij braam veroorzaakt, brengt *Eriophyes gracilis* NAL. aan de frambozenvruchten, zo ze daar al op voor mocht komen, niet de minste schade toe en in tegenstelling tot *Eriophyes ribis* NAL., de mijt, die de zgn. rondknop bij de zwarte- en rode bes doet ontstaan, is bij *E. gracilis* tijdens de overwintering in de frambozenknop geen spoor van galvorming of beschadiging van het jonge door de binnenste knopschubben omsloten weefsel te vinden, zodat de knoppen in het voorjaar dan ook normaal uitbotten.

Resumerend kunnen we zeggen, dat op het ogenblik *Eriophyes gracilis* aan de frambozenplant geen schade van betekenis toebrengt, zodat een bestrijding achterwege kan blijven. Ook MASSEE (3) is over een mijteninfectie niet erg bezorgd wanneer hij schrijft: „Until it can be ascertained with certainty that the mite is causing any harm to the plant, it seems superfluous to attempt to control it".

Ongetwijfeld moet de natuurlijke reproductie van de frambozenstruik, waarbij ieder jaar de overjarige scheuten afsterven en vervangen worden door jong eerstejaars hout, beschouwd worden als een belangrijke remmende factor ten aanzien van de toename van een eenmaal aanwezige mijtenpopulatie. Mocht het later toch nodig geacht worden deze frambozenmijt te bestrijden, dan kan gemakkelijk op ieder gewenst ogenblik, vanaf begin Mei tot eind Augustus, een behandeling met Californische pap (2–3 %) of zwavel-bespuiting worden toegepast.

SUMMARY

Introduction. Yellow leafspots on raspberry other than those caused by nutritional deficiency frequently occur. They are due either to virus diseases, to the raspberry mite, *Eriophyes gracilis* NAL., [1]) or to a combination of both. Since it is often difficult to distinguish between the spots due to viruses and those due to mites, a study of the biology of *E. gracilis* has been made to determine the symptoms produced by this mite and to compare them with those caused by viruses. Fifteen leaves from a number of raspberry plants (variety Indian Summer), known to be infested with mites, were collected at Wageningen. The yellow and normal green areas on these leaves were measured and the number of mites on each was counted (see table 1). There was a highly significant difference between the number of mites per sq. cm. on the green areas (0.3 ± 0.08) and on the yellow areas (8.9 ± 2.12); there was also a significant correlation between the number of mites on the yellow parts of the leaves and the areas of these parts (corr. coefficient 0.59 ± 0.22).

The plants from which these yellowed mite-infested leaves were taken, were used as a standard of comparison for the various cultivated raspberry varieties under observation elsewhere in Holland during 1950. They were also used for studying the life history of *E. gracilis*.

Biology. If, early in May, one searches mite-infested raspberry plants with a magnifying lens ($8\times$) or examines leaves in the laboratory with the aid of a binocular microscope, one finds very small pink-brown mites approximately 110 by 30 μ, which are mainly present on the under surfaces of the leaves of the one year old canes. In the ensuing months the mites increase in number and this results in an increase in the number and size of the yellow leaf spots. Mites which are often present in small numbers on the woody parts, leaf-stalks and flowers, migrate to their final feeding places on the undersides of the leaves.

About the beginning of May most of the mites are to be found on the leaves of the one year old canes, for, as will be seen, the mites have passed the preceding winter on or within the axillary buds on these canes. After the opening of the buds in the spring the mites crawl to the newly expanding leaves. Simultaneously new shoots appear from buds on the root-stock and rapidly increase in length. After some time they come in contact with the leaves of the fruiting canes, where many mites are already present, and consequently become infested. Although in the spring the majority of the mites are on the leaves of the one year old canes, the mites on the leaves of the young shoots eventually become more abundant than those on the old canes, especially after ripening of fruit. The older stems, which are gradually dying, presumably furnish less favourable conditions for feeding and reproduction of the mites than the growth on the new shoots.

In graphs I and II are given the numbers of mites per leaf counted about the middle of June and early in August. 100 leaves were examined at each period and the counts have been arranged according to the following grouping: 0, 1–10, 10–20, 20–40, 40–60, 60–80, 80–100 and more than 100 (>100).

By the end of August the mite population attains its maximum and numbers of

[1]) Determination was made with the aid of an oil immersion microscope; the mite was found to agree with the description given by NALEPA (4).

100–200 per leaf are very common. In the beginning of September a mass migration starts; the mites gradually abandon the foliage, crawling down the leaf veins and petioles to the axils. Many hide in the narrow space between the petiole and the axillary bud, whereas others manage to penetrate between the outer bud scales. In table 2 are shown the numbers of mites found in ten buds, examined in the middle of September. Other species of mites are sometimes found, such as a *Tarsonemus* sp. and a *Tyroglyphus* sp. At the beginning of November numbers ranging from 300–800 mites per bud can sometimes be found so many, in fact, that they may be visible to the naked eye as small pinkish yellow masses. Nymphs and adults may be found hibernating in or on the buds but eggs are not present. The great majority of the mites pass the winter in the imago stage; all that have been examined then have been found to be females.

During the winter the mites are in a dormant condition, but by exposing them to a temperature of 20 °C they soon become active and leave the buds. Under field conditions temperatures high enough to activate the mites occur about the second half of April (17–20 °C). At this time the buds on the canes have already burst (this usually occurs at about 10 °C). At the beginning of May, therefore, the mites find themselves on young leaf tissue and about the middle of the month the first yellow leaf symptoms appear.

Symptomatology. Differences in the anatomy of healthy and mite infested leaves are shown in table 3. The data show that the thickness of the mite infested leaf areas (A and B) is less than that of the healthy leaf areas (A' and B'), on account of the poorer development of the mesophyll tissue ($\bar{v}_{A'-A} = 15.39 \pm 2.51\,\mu$, $\bar{v}_{B'-B} = 10.72 \pm 2.82\,\mu$). There is no significant difference between the number of hairs on the epidermis of non-infested and infested leaves ($\bar{v}_{A'-A}$ $1.29 \pm 0.94\mu$, $\bar{v}_{B'-B} = 1.71 \pm 1.19\mu$). These morphological differences are not apparent to the unaided eye.

Many mites of the *Eriophyidae* produce distinctive leaf galls on plants, but on raspberries *E. gracilis* only occasionally produces very small irregular outgrowths near the leaf veins.

As already mentioned, it is important to be able to distinguish between the yellow leaf spots caused by mites and the leaf spots caused by viruses. In general there are two types of yellow mite spots:

I Small yellow spots with definite margins occurring in variable numbers (fig.1).

II Small to large yellow areas with indefinite margins, occurring usually near the leaf margins or along the main veins (see the two leaflets on the left hand side of figure 2).

The above symptoms as well as intermediate symptom-types may occur at the same time on the leaves of a single plant. In August or later, large yellow areas may develop on the leaves (fig. 3).

With heavy mite infestation, large yellowed areas appear on the upper sides of the leaves and light green-coloured spots develop on the under sides. In the spots on the under sides one obtains the impression that the leaf hairs have been destroyed by the mites, but this is not the case as illustrated by the data in table 3.

In order to determine whether the symptoms are produced by mites one must have enough leaves to give a complete picture. For example: In a raspberry plantation of the variety St. Walfried many leaves showed spots such as those on the top leaflet in fig. 5. These spots resemble those of type II caused by *E. gracilis*.

Nevertheless, in this plantation no mites could be found and no evidence was obtained to demonstrate a previous mite infestation. When more leaves were examined many were found which had typical symptoms of a virus of the vein clearing-type (figs. 4 and 6) and by comparing the leaves in figs. 4, 5 and 6 it is apparent that the yellow spots shown by the top leaflet in fig. 5 are also virus symptoms.

It may be concluded that it is possible by careful examination to distinguish between the symptoms resulting from mite infestation and those due to virus infection, provided one makes sufficient observations and has some experience with the problem.

Injury to the plant. It is known that *Eriophyes essigi* HASSAN causes injury to blackberry fruits. Injury by *E. gracilis* NAL. to raspberry fruits has not been found in this investigation. During hibernation the mites penetrate between the outer bud scales but do not succeed in reaching the inner ones, nor the well protected young leaf tissues and inflorescences. No damage occurs during the winter, as the buds develop normally in the spring. The iodine test of SACHS shows that carbohydrates are produced in the yellow mite infested areas appearing on the upper surfaces of the leaves, but that no assimilation occurs in the heavily infested spots on the lower sides.

Mite injury to raspberries is rarely serious enough to affect the growth of the plants, so that no control measures are usually necessary. If, for some reason, the mite population should develop to the stage when injury became apparent, control could easily be obtained by a timely application of lime sulphur between the beginning of May and the end of August.

LITERATUUR

1. ESSIG, E. O., A history of Entomology, p. 87–88, 1931.
2. HASSAN, A. S., The biology of Eriophyidae with special reference to Eriophyes tristriatus Nal.. Univ. Calif. Pub. in Entom. IV: 345–347; 380, 1928.
3. MASSEE, A. M., The Pests of Fruits and Hops, p. 199, 1946.
4. NALEPA, A., Eriophyiden – Gallenmilben. Zoologica 24: 236, 1911.

GROEISTOF IN VERBAND MET VIRUSZIEKTE, IN HET BIJZONDER BIJ ARACHIS HYPOGAEA [1])

With a summary: Growth substances in relation to virus diseases; experiments with Arachis hypogaea

DOOR

PROF. DR T. H. THUNG [2]) en T. HADIWIDJAJA [3])

De krul- of heksenbezem-ziekte wordt op Java op verschillende gewassen aangetroffen, o.a. op *Arachis hypogaea*, *Ipomoea batatas*, *Crotalaria*-soorten, *Canavalia ensiformis* e.a. Over het voorkomen bij Arachis wordt het eerst melding gemaakt door RUTGERS (6). Door THUNG (8) wordt vastgesteld, dat de ziekteoorzaak bij Arachis een virus is. Aangetaste planten produceren practisch geen zaden. Door proeven is tevens uitgemaakt, dat het virus niet met zaad overgaat. De ziekte breidt zich in de laatste jaren sterk uit; er zijn gevallen bekend, waarbij aanplantingen van enige tientallen ares voor 60–80 % door de ziekte worden aangetast.

ZIEKTEVERSCHIJNSELEN

De ziekte, die meestal in een $1\frac{1}{2}$ tot 2 maanden oude aanplant begint op te treden, wordt in de beginne gekenmerkt door het uitlopen van de slapende ogen aan de hoofdas en de zijassen en het vormen van kleine min of meer stijve bladeren aan deze zijloten. Van deze secundaire zijloten lopen de ogen weer uit en vormen nog kleinere zijloten met nog kleinere blaadjes. Op zijn beurt ontstaan op deze tertiaire loten vaak nog kwartaire zijloten. De gehele plant krijgt zodoende een gedrongen en heksenbezemachtig aanzien (fig 1), waarbij echter de allereerste takken en bladeren nog het gezonde uiterlijk van vóór het optreden der ziekte blijven behouden.

Bij latere waarnemingen werden bij de variëteiten *Schwarz* 21 en *Gadjah* bij een gedeelte der zieke planten ook afwijkingen aan de gynophoren geconstateerd. Van heksenbezemzieke planten buigt de top der gynophoren – al of niet na het bereiken van de grond – zich als een vishaak om en wordt ze zodoende negatief geotroop (fig. 2).

De meest frappante symptomen van de heksenbezem-ziekte bij *Arachis* zijn dus:

1. het onvermogen van de zieke plant de uitgroei tegen te gaan van normaal latente zijknoppen aan de hoofdas en zijassen.
2. een afwijking in de geotropie van de gynophoren.

Het is bekend, dat het latent blijven van slapende knoppen, evenals de geotropie onder invloed staan van groeistoffen (1, 2, 3, 5 en 9). Het een en ander doet derhalve vermoeden, dat bij heksenbezemzieke planten, in dit geval tengevolge van de aanwezigheid van virus in de plant, storingen in de groeistofhuishouding zijn opgetreden. Dit was de aanleiding om het verband groeistof-virus na te gaan.

[1]) Ontvangen voor publicatie, Juli 1950.

[2]) Oud Hoogleraar aan de Universiteit van Indonesië, Hoofd van de Virologische Afdeling van het Instituut voor Plantenziektenkundig Onderzoek te Wageningen.

[3]) Chef laboratorium afd. Plantenziekten – Faculteit van Landbouwwetenschap – Bogor, Java.

LITERATUURGEGEVENS

Over de verhouding groeistof-virus is slechts zeer weinig bekend. GRIEVE (4) heeft in zijn eerste proeven bij behandeling van heteroauxine met sap van gezonde en van „spotted wilt virus"-zieke tomaten, een indicatie gevonden, als zou het viruszieke sap een inactiverende werking hebben op de heteroauxine. Resultaten van later genomen proeven waren echter tegenstrijdig. Een andere, meer overtuigende proef van hem was de volgende: Gezonde en viruszieke tomatenplanten werden geïnjiceerd met diverse concentraties van heteroauxine. Adventieve wortels ontstonden op het overgrote deel der gezonde, doch op geen enkel van de viruszieke planten.

EIGEN ONDERZOEK [1])

a. Toediening van groeistof op gezonde en heksenbezemzieke *Arachis*-planten. De hoofdas van heksenbezemzieke en gezonde Arachis potplanten van ongeveer dezelfde leeftijd werden op enige cm afstand van de top af gedecapiteerd. Hierop werd een passend rubberslangetje bevestigd met aan het ene uiteinde een 5 cm lang glazen buisje, waarin de groeistof werd gespoten. De gebruikte groeistof is β-indolyl azijnzuur in concentraties van 10^{-4} en 10^{-5} grammolecule per liter. Als contrôle werd aqua destillata gebezigd. Elke ochtend werd de resterende groeistof in het buisje weggezogen en door nieuwe (koel bewaard in een frigidaire) vervangen. Na een maand werd de proef afgesloten. In geen der objecten was enige verandering opgetreden. Bij de heksenbezemzieke planten ging de vorming van nieuwe dwergloten steeds door; bij gezonde planten, die met groeistof waren behandeld, had geen vorming van adventieve wortels plaats gevonden. Dit gebeurt meestal bij normaal ouder wordende planten.

Hierdoor kwam de vraag op: Reageert Arachis wel op β-indolyl azijnzuur? Naar aanleiding hiervan werden de volgende proeven genomen.

b. Toediening van β-indolyl azijnzuur op gezonde planten. Eerste proef: Van 25 dagen oude Arachis-planten werd de hoofdas boven de vierde knoop gedecapiteerd en van een slangetje en buisje voorzien. De objecten waren: A = groeistof 10^{-5}; B = groeistof 10^{-4}; C = aqua destillata en D = contrôle, niet gedecapiteerd. De toediening van groeistof vond dagelijks plaats tot de 100e dag, waarop de proef werd afgesloten en de volgende resultaten werden verkregen (zie tabel 1).

Decapitatie boven de vierde knoop en toediening van groeistof bleek geen merkbare invloed te hebben op de verdere ontwikkeling van de 4 à 5 (normale) zijassen van de Arachis-plant. Waarschijnlijk waren de eerst nog niet duidelijke, hogere knoppen reeds bij het begin van de proeven in een uitgroeistadium, waardoor hier geen remming kon worden geconstateerd door groeistoftoediening.

Tweede proef: 48 dagen oude Arachis-planten werden boven de achtste knoop gedecapiteerd en op dezelfde wijze behandeld als boven; op de 100e dag werd de proef afgesloten.

In tabel 2 worden de volgende resultaten geboekt.

[1]) Aan Dr M. van Raalte van het Treub Laboratorium te Bogor zijn wij dank verschuldigd voor zijn aanwijzingen bij de opzet van de proeven en voor het beschikbaar stellen van groeistof.

a b c

Foto 1. Twee Arachis-planten met heksenbezemverschijnselen en een gezonde contrôle; variëteit „Gadjah", oud 90 dagen

Two Arachis plants with symptoms of witches' broom and a healthy one: variety „Gadjah", 90 days old

a c b

Foto 2. De linker en rechter plant zijn heksenbezemziek en vertonen naast abnormaal uitgegroeide knoppen gynophoren met negatief geotropisme. Midden plant is gezond.

The plants on the left and right are affected with witches' broom disease; note the abnormal development of axillary buds and the negative geotropism of the gynophores. The middle plant is healthy.

Tabel 1. Invloed van toediening van β-indolyl azijnzuur op de ontwikkeling van zijassen bij gezonde planten

Influence of application of β-indolyl acetic acid on the development of lateral shoots on healthy plants

Object	No. plant	25e dag/*25th day*		100e dag/*100th day*			
		Zijassen/Lateral shoots		Zijassen/*Lateral shoots*		Gynophoren/*Gynophores*	
		Aantal *number*	gem. lengte *mean length* in mm	aantal *number*	gem. lengte *mean length* in mm	aantal *number*	gem. lengte *mean length* in mm
A = 10^{-5}	A1	4	7,5	4	280	16	55,4
	A2	–	–	5	250	14	44,7
	A3	4	6,5	4	218	16	55,6
	A4	4	3,5	4	248	12	44,7
B = 10^{-4}	B1	4	4,5	4	278	9	36,2
	B2	3	7,7	4	252	4	48,0
	B3	–	–	5	278	17	45,1
	B4	4	4,75	5	242	29	64,2
C = aq.dest.	C1	2	12,5	4	334	9	58,7
	C2	2	3,0	5	203	9	31,7
	C3	2	3,0	5	206	18	43,8
	C4	2	7,5	4	253	15	46,7
D = Contr.	D1	4	4,0	4	213	13	46,2
	D2	3	6,0	4	258	14	45,5
	D3	2	7,5	5	161	14	53,0
	D4	4	1,5	4	214	13	41,8

Tabel 2. Invloed van toediening van β-indolyl azijnzuur op de uitgroei van zijassen bij gezonde planten

Influence of application of β-indolyl acetic acid on the development of lateral shoots on healthy plants

Object	No plant	Op de 100e dag / *On the 100th day*			
		Aantal zijassen *Number of lateral shoots*	Gem. lengte der zijassen *Mean lergth of the lateral shoots* in mm	Aantal zijassen *Number of lateral shoots*	Gem. lengte der zijassen *Mean length of the lateral shoots* in mm
A = 10^{-5}	A1	5	269	19	58,4
	A2	7	216	18	49,0
	A3	5	199	22	53,1
B = 10^{-4}	B1	4	326	17	45,2
	B2	4	304	13	47,8
	B3	4	129	17	22,4
C = aq.dest.	C1	7	296	16	45,4
	C2	5	250	15	51,6
	C3	6	169	18	48,4
D = Contr.	D1	4	185	15	36,4
	D2	4	228	21	56,0
	D3	4	205	18	42,2

Het meest frappante resultaat is hierbij de remming tot het uitlopen van een vijfde en van hogere zijassen bij de objecten B en D. *Arachis hypogaea* reageert dus blijkbaar wel op toediening van β-indolyl azijnzuur, in dit geval bij een concentratie van 10^{-4}.

c. Behandeling van *Arachis*-stekken met β-indolyl azijnzuur. Van $2\frac{1}{2}$ maand oude gezonde en heksenbezemzieke Arachisplanten werden topstekken gemaakt van 15–20 cm lengte. De ondereinden van deze stekken werden tot een paar cm diep gehangen in bekerglazen met groeistof (10^{-5} en 10^{-4}) en met aqua destillata (contrôle). De bekerglazen met de topstekken werden gedurende één etmaal bewaard in een frigidaire bij 10–15 °C, om de groeistof gelegenheid te geven in te werken. Hierna werden de stekken te hangen gezet in flessen met aqua destillata. Na een week werd de proef afgesloten.

Herhaalde proeven hebben uitgewezen, dat noch gezonde noch zieke topstekken van de drie objecten adventieve wortels kunnen vormen. Met deze methode kan dus het verband groeistof-virus bij Arachis niet worden vastgesteld.

d. Behandeling van topstekken van *Ipomoea batatas*. Een analoge proef als de voorgaande werd gedaan met Ipomoea-stekken uit gezonde en heksenbezemzieke planten. Door THUNG (7) is bewezen, dat ook deze heksenbezem-ziekte door een virus veroorzaakt wordt. Herhaalde proeven hebben uitgewezen, dat β-indolyl azijnzuur de wortelvorming van gezonde stekken sterk stimuleert, terwijl heksenbezemzieke stekken zeer slecht bewortelen, ook na een behandeling met groeistof.

e. Behandeling van bladeren van *Ageratum conyzoides*. Dezelfde proef wordt uitgevoerd met bladeren van gezonde en mozaiekzieke (virus-ziekte) *Ageratum conyzoides*. Ook hierbij bleek dat de wortelvorming van mozaiekzieke bladeren practisch nihil is, ook na behandeling met groeistof, terwijl bij gezonde bladeren de wortelvorming sterk wordt gestimuleerd.

SAMENVATTING

Symptomen van de heksenbezem-ziekte bij *Arachis hypogaea*, waarvan de oorzaak een virus is, doen vermoeden dat storingen in de groeistofhuishouding van de plant zijn opgetreden. Hierbij is gedacht aan een mogelijke inactivering van de groeistof door het virus. De thans genomen proeven hebben de juisheid van dit vermoeden niet kunnen bevestigen. De proeven zijn genomen met waarschijnlijk te oude planten. Wel zijn hierbij aanwijzingen verkregen, dat bij *Arachis hypogaea* toediening van 10^{-4} β-indolyl azijnzuur het uitlopen van hogere zijassen kan remmen.

Bij *Ipomoea batatas* en *Ageratum conyzoides* is gebleken, dat respectievelijk viruszieke stekken en bladeren in aqua destillata zeer slecht bewortelen, terwijl gezonde daarbij wel een goede beworteling vertonen. Behandeling met groeistof geeft bij gezonde stekken en bladeren een sterke stimulans in de beworteling; bij viruszieke blijft deze stimulans echter uit. Misschien wordt in deze gevallen de normaal in de plant geproduceerde en de bij de proef toegediende groeistof onwerkzaam gemaakt. Er zal worden nagegaan, of viruszieke, in het bijzonder heksenbezemzieke planten, minder groeistof bevatten dan gezonde planten.

SUMMARY

A virus disease of groundnut plants (*Arachis hypogaea*) called „witches' broom" causes reduction of growth of the internodes, stimulation of axillary buds and formation of numerous small, stiff leaves. In addition, the gynophores show loss of positive geotropism (see Figs. 1 and 2); after some time they begin to grow upwards. Owing to the rôle of auxin in geotropism and its influence on the lengthening of internodes and on the suppression of growth of axillary buds, a study was made of the inactivating effect of the virus on growth substances in the plant. GRIEVE has demonstrated such an effect in tomatoes affected with the spotted wilt disease. Our experiments showed that 10^{-4} β-indolyl acetic acid suppressed the growth of higher axillary buds when applied to decapitated healthy groundnut plants (Tab. 1 and 2). No further effects were obtained, possibly owing to the fact that rather old plants were used. However, more definite results were obtained with *Ipomoea batata* affected with witches' broom disease, and with *Ageratum conyzoides* affected with mosaic disease. Application of β-indolyl acetic acid to cuttings and leaves from diseased plants failed to stimulate root-formation, whereas application to cuttings and leaves from healthy plants resulted in increased and more rapid root growth. Our general conclusion is that in plants affected with virus diseases, growth substances, if present, are at least unable to exert their full effects.

LITERATUUR

1. DOLK, H. E.: Geotropie en groeistof. Diss. Utrecht, 1930.
2. FERMAN, J. H. G.: A new theory on the correlative inhibition of lateral buds and shoots. Proc. Kon. Ak. Wet. 41: 167–179, 1938.
3. ———, The role of auxin in the correlative inhibition of the development of lateral buds and shoots. Receuil trav. bot. néerl. 35: 177–287, 1938.
4. GRIEVE, B. J.: Spotted Wilt Virus and the Hormone Heteroauxin. Nature, 129, 1936.
5. JACOBS, W. P.: The development of the gynophore of the peanut plant, Arachis hypogaea L. 1. The distribution of mitoses, the region of greatest elongation, and the maintenance of vascular continuity in the intercalary meristem. Am. J. Bot. 34: 361–370: 1947.
6. RUTGERS, A. A. L.: De krulziekte van katjang tanah, (Arachis hypogaea L.). Med. Afd. Plantenziekten No 6, 1913.
7. THUNG, T. H.: Heksenbezem bij bataten (Ipomoea batatas), een virusziekte. Landbouw, 19: 286, 1947.
8. ———, Virusziekten van Arachis hypogaea. Landbouw, 19: 337–347, 1947.
9. WENT, F. W. and K. V. THIMANN, Phytohormones, 1937.

UIT DE LITERATUUR

GADD, I. *Hot-water treatment, a new method of controlling Ascochyta spp. on pea seeds.* Comptes rendus de l'Ass. Int. d'Essais de Semences, 16: 1–94, 1950.

DOOR

L. C. P. KERLING

Laboratorium voor Phytopathologie, Wageningen

Sterke aantasting van het erwtengewas door *Ascochyta pisi* in bepaalde jaren vindt men geregeld in de literatuur vermeld. DOYER [2]) bericht voor het seizoen 1924–1925 een aantasting van 40–50 % van het zaadgoed door deze schimmel bij te velde gekeurde partijen en zelfs van 80–90 % bij niet gekeurde partijen. Ook GADD vermeldt voor Z. en Z.O. Gothland in de jaren 1946 en 1948 een aantasting van meer dan 50 % gepaard gaande met lage kiemkracht. Hoewel het zaaizaad van de oogst 1949 in Nederland slechts voor een laag percentage aangetast was, waren de omstandigheden in het voorjaar 1950 zodanig, dat de vlekken van *Ascochyta pisi*, die elk jaar geregeld op jonge planten voorkomen, zich sterk konden vermeerderen. Niet alleen was het aantal vlekken groot, doch zij breidden zich ook uit rondom de stengels, speciaal aan de knopen en bij de aanhechtingsplaatsen der bladschijven. De necrotische, bruin verkleurde schors rotte weg, mede door binnenkomen van secundaire parasieten, zoals *Fusarium avenaceum*, die uit de zieke plekken geïsoleerd kon worden. Het gevolg was een afbreken van de stengels op de aangetaste plaatsen en een afvallen van de bladschijven. Warmer en droger weer in Juni hield aanvankelijk verdere verspreiding tegen, doch de vele regen voor en tijdens de oogst deed de infectiekansen weer toenemen. Hoewel exacte cijfers nog niet bekend zijn, ziet het er naar uit, dat het Proefstation voor Zaadcontrôle ook dit jaar weer een hoog percentage aantasting zal noteren.

Het is reeds lang bekend dat door *Ascochyta pisi* de kiemkracht van het zaad verlaagd wordt, terwijl vele kiemplanten zo sterk door de schimmel aangetast kunnen worden, dat zij spoedig sterven (DOYER [1]).

De conservenindustrie, die als het meest geschikte ras de zeer vatbare „Kelvedon Wonder" laat verbouwen, heeft groot nadeel van de vaak verkleurde aangetaste erwten.

Naar een goed bestrijdingsmiddel zoekt men allerwege. Talrijk zijn de publicaties met gegevens aangaande nat of droog ontsmetten met verschillende middelen. De schimmel komt echter zo diep in het zaad voor, dat geen der oppervlakkig werkende middelen afdoende is. Mejuffrouw Dr L. C. DOYER trachtte daarom door een warmwaterbehandeling het mycelium van de zwam te doden, waarbij het behoud van de kiemkracht van het zaad als eis werd gesteld. Haar pogingen mislukten evenwel: de erwten bleken de behandeling slecht te verdragen en werden al te zeer verzwakt.

GADD, die dit probleem nogmaals opvatte, heeft met groot doorzettingsvermogen naar een goede ontsmettingsmethode gezocht en hij heeft die blijkbaar ook gevonden in een warmwaterbehandeling. Hierbij is het echter noodzakelijk,

[1]) DOYER, L. C. Infecties van zaaizaden in verschillende jaren. Rijksproefstation voor Zaadcontrôle, Wageningen, 336–349, 1925.

dat de erwten eerst geheel gezwollen zijn door voorweken in water van kamertemperatuur. Wordt de tijd van voorweken te kort genomen, zodat de cotylen nog harde, niet gezwollen kernen vertonen, dan kan het mycelium dat zich in deze delen bevindt, niet door de warmwaterbehandeling gedood worden. Door te lang voorweken daarentegen, wordt de kiemkracht van de erwt sterk verlaagd, zelfs kan het zaad hierdoor gedood worden. Hoe lang het voorweken moet geschieden hangt af van de variëteit en van de gebruikte hoeveelheden zaad. De opgegeven tijden variëren tussen 15 en 24 uur. Om kiembeschadiging te voorkomen moet bij grotere partijen een overmaat water gebruikt worden, waaraan kalkwater wordt toegevoegd om het gevormde koolzuur onschadelijk te maken. Na het weken ondergingen partijen erwten de warmwaterbehandeling gedurende verschillende tijden en bij verschillende temperaturen. De beste resultaten werden verkregen door een zgn. zwakke behandeling, bestaande uit weken gedurende 20 uur gevolgd door een bad van 8 minuten in water, dat tijdens de behandeling van 48° tot 46° C afkoelde. In sommige gevallen had ook een sterke behandeling een goed gevolg: na 24 uur weken bleven de erwten gedurende 11 minuten in een waterbad dat van 49° C tot 47° C afkoelde. Na de behandeling werden de erwten gedroogd en behandeld met een ontsmettingsmiddel, b.v. Spergon. In deze toestand kunnen ze bewaard worden. Na uitzaaien in het veld bleek de opkomst van het behandelde deel van een partij bijna 2 × zo groot te zijn als van het onbehandelde. Tijdens de pluk voor de conservenfabrieken bleken de behandelde bedden van „Delicatesse" 88 % gave peulen te geven, tegen 43 % in bedden afkomstig van onbehandeld zaad. Bovendien gaven de behandelde bedden een groter opbrengst.

Het zou van groot belang zijn, wanneer deze methode in Nederland in de practijk toegepast zou kunnen worden. Daar de omstandigheden in ons land sterk afwijken van die in Zweden zal een grondig onderzoek naar de mogelijkheden nodig zijn. Een voorlopig proefje wees al uit, dat het drogen van de erwten na de behandeling bij ons niet zo eenvoudig verloopt als in de droge Zweedse atmosfeer! Een andere moeilijkheid is het afnemen van de vitaliteit van de behandelde zaden. Dat dit het geval kan zijn ondanks het verkrijgen van goede opkomstcijfers blijkt uit de volgende opmerking van GADD: Van een partij met *Ascochyta pisi* besmette erwten, waarbij voor de behandeling ook 10 % *Ascochyta pinodella* aantasting voorkwam, bleef een deel onbehandeld, een deel werd met arasan ontsmet, een deel onderging een zwakke en een ander deel een sterke behandeling. De oogst van het onbehandelde en het met arasan behandelde deel leverde zaden op met hoog percentage *Ascochyta pisi*-aantasting. Bij zaden, afkomstig van ouders, die een zwakke behandeling ondergingen, trad *Ascochyta pinodella* sterk op de voorgrond, terwijl bij de nakomelingen van sterk behandelde erwten deze schimmel overheersend optrad. Wel was de kiemkracht van de zaden na de behandelingen hoog gebleven, doch de planten, die er zich uit ontwikkelden, waren blijkbaar in een zodanig verzwakte toestand gekomen, dat zij door *Ascochyta pinodella* makkelijk aangetast konden worden. De gevolgtrekking, dat door de warmwaterbehandeling wel *Ascochyta pisi*, maar niet *Ascochyta pinodella* in het zaad gedood wordt, behoeft echter niet juist te zijn. *Ascochyta pinodella* kan namelijk in de bodem voorkomen, een zienswijze, die GADD deelt met andere onderzoekers, o.a. GOULD [1]). Niet vanuit het zaad, maar vanuit de grond zou deze zwam de

[1]) GOULD, C. J. Ascochyta pinodella footrot of peas in Western Washington. Phytopathology, 39 : 947–949, 1949.

verzwakte planten geïnfecteerd kunnen hebben. Mogelijk zouden ook andere schimmels, zwakkere pathogenen dan *Ascochyta pinodella* vat op dergelijke planten kunnen krijgen en voetziekten veroorzaken, zodat de schade, die zij gezamenlijk kunnen toebrengen wel eens kon opwegen tegen de voordelen van de behandeling. GADD zegt ten slotte dan ook uitdrukkelijk, dat alleen zaad met hoge vitaliteit behandeld mag worden. In dit verband kan het van belang zijn dat het Proefstation voor Zaadcontrôle naast gegevens omtrent zuiverheid, kiemkracht en gezondheidstoestand ook cijfers betreffende de vitaliteit van erwtenmonsters verstrekt. De biologische kleurmethode wordt hiertoe gevolgd, waarbij de geweekte erwten met tetrazolium behandeld worden.

De hier besproken warmwaterbehandeling is nog niet uitgewerkt voor zaaizaadhoeveelheden groter dan 800 g. Er zal nog heel wat geëxperimenteerd moeten worden eer een goede outillage gevonden zal zijn, waarmee men deze zaadontsmettingsmethode met evenveel zekerheid zal kunnen toepassen als bijv. het „koken" van Narcissenbollen ter bestrijding van het Narcissenaaltje!

SUMMARY

Infection of pea seeds by *Ascochyta pisi* is quite common. DOYER reported 80–90 % seed infection in Holland in 1925. From 1925 on moderate to severe losses from this disease have occurred. During the growing season of 1950 the weather was very favourable for the spraed of this disease. GADD (1950) mentions the years 1946 and 1948 as extremely bad for South-Sweden. Many tests for the control of this disease by dusting the seed have been made, but chemicals exert no effect on the mycelium that penetrates deeply into the cotyledons.

After numerous methodical trials GADD has published a method to eliminate the disease from even very severely infected seeds without any decrease in germination capacity and vitality. The seeds are soaked in water at room temperature 16–24 hours until complete swelling has been archieved during 16–24 hours. A given amount of lime is added to the soaking liquid to obtain an alkaline reaction. Following the soaking the peas are kept in a water bath at 48° C for 8 minutes. By the end of this treatment the temperature dropped to 46° C. A stronger treatment could be given by keeping the peas in a bath at 49° to 47° C for 11 minutes. Though the emergence of the treated peas is much better than that of the untreated ones, the loss of vitality is still important. GADD observed in some cases a heavy attack of *Ascochyta pinodella*. This fungus, present in the soil (GOULD), may be a danger for plants weakened by the treatment. Perhaps other fungi even weaker than *A. pinodella* may penetrate the seedlings as well, abolishing the effect of the treatment. Though GADD's method is promising, many experiments especially concerning the vitality of the treated seeds will be necessary to establish a method good enough to be used in practice.